

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problems Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 02 March 1998 (02.03.98)	
International application No. PCT/JP97/02438	Applicant's or agent's file reference P502(PCT)
International filing date (day/month/year) 14 July 1997 (14.07.97)	Priority date (day/month/year) 15 July 1996 (15.07.96)
Applicant SEKINE, Teruaki	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:  
04 February 1998 (04.02.98)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:  
\_\_\_\_\_

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer K. Takeda Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

### NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

YOSHIMURA, Kouichi  
Central Plaza Building 409  
10-1, Iidabashi 4-chome  
Chiyoda-ku  
Tokyo 102  
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 22 January 1998 (22.01.98)		
Applicant's or agent's file reference P502(PCT)		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/JP97/02438	International filing date (day/month/year) 14 July 1997 (14.07.97)	
Priority date (day/month/year) 15 July 1996 (15.07.96)		
Applicant SEKINE, Teruaki		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

EP,JP,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

None

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on

22 January 1998 (22.01.98) under No. WO 98/02175

#### REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

#### REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

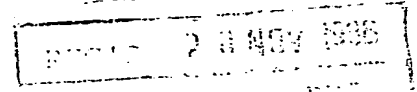
The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]



出願人又は代理人 の書類記号 P502 (PCT)	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P97/02438	国際出願日 (日.月.年) 14.07.97	優先日 (日.月.年) 15.07.96
国際特許分類 (IPC) Int. Cl <sup>8</sup> A61K35/14		
出願人 (氏名又は名称) 関根 暉彬		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
  - II ☐ 優先権
  - III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
  - IV ☐ 発明の単一性の欠如
  - V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
  - VI ☐ ある種の引用文献
  - VII ☐ 国際出願の不備
  - VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 04.02.98	国際予備審査報告を作成した日 11.11.98	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 内田 淳子	4C 8115  電話番号 03-3581-1101 内線 3454

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とする)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                                |                |                      |
|--------------------------------|----------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書   | 第 _____ ページ、   | 出願時のもの               |
| <input type="checkbox"/> 明細書   | 第 _____ ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書   | 第 _____ ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書   | 第 _____ ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、     | 出願時に提出されたもの          |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、     | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、     | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、     | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面    | 第 _____ ページ/図、 | 出願時に提出されたもの          |
| <input type="checkbox"/> 図面    | 第 _____ ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面    | 第 _____ ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面    | 第 _____ ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 補正により、下記の書類が削除された。

- |                                |               |
|--------------------------------|---------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書   | 第 _____ ページ   |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項     |
| <input type="checkbox"/> 図面    | 第 _____ ページ/図 |

3. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

4. 追加の意見 (必要ならば)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

次に、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、以下の理由により審査しない。

- ☒ 請求の範囲 4

☒ この国際出願又は請求の範囲 4 は、国際予備審査をすることを要しない  
次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

人の身体の治療による処置方法である。

- ☐ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 \_\_\_\_\_ の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

- ☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 \_\_\_\_\_ が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

- 請求の範囲 について、国際調査報告が作成されていない。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲 1 - 3 有  
請求の範囲 無

進歩性 (IS)

請求の範囲 1 - 3 有  
請求の範囲 無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲 1 - 3 有  
請求の範囲 無

2. 文献及び説明

国際調査報告に記載されたいずれの文献にも、自己由来リンパ球を抗CD3抗体等を含む培養液中で培養することにより増殖させたものをウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤として用いることについて記載も示唆もないので、請求の範囲1-3記載の発明は、新規性、進歩性を有する。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

E P



P C T

特 許 協 力 条 約

## 国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)  
(P C T 1 8 条、P C T 規則43、44)

出願人又は代理人 の書類記号 P 5 0 2 (P C T)	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(P C T / I S A / 2 2 0 ) 及び下記 5 を参照すること。	
国際出願番号 P C T / J P 9 7 / 0 2 4 3 8	国際出願日 (日.月.年) 1 4 . 0 7 . 9 7	優先日 (日.月.年) 1 5 . 0 7 . 9 6
出願人 (氏名又は名称) 関根 暉彬		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (P C T 1 8 条) の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。
2. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。
3. ☐ この国際出願は、ヌクレオチド及び／又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。
  - ☐ この国際出願と共に提出されたもの
  - ☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの
  - ☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない
  - ☐ この国際調査機関が書換えたもの
4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。  
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。  
\_\_\_\_\_
5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。  
☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (P C T 規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。
6. 要約書とともに公表される図は、  
第 \_\_\_\_ 図とする。☐ 出願人が示したとおりである。 ☒ なし  
☐ 出願人は図を示さなかった。  
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ 4 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
  
人又は動物の身体の治療による処置方法である。
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であって P C T 規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A 61K35/14

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A 61K35/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS Online

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 3-80076, A (オーソ・ファーマシューチカル・コーポレーション) 4. 4月. 1991 (04. 04. 91) & EP, 409655, A & CA, 2021500, A	1-3
A	Scott Koenig, et al, 「Transfer of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes to an AIDS patient leads to selection for mutant HIV variants and subsequent disease progression.」, Nature Medicine, 第1巻, 第4号, (1995), p. 330-336	1-3
A	Elizabeth A. Walter, et al, 「Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor.」, The New England Journal of Medicine, 第333巻, 第16号, (1995), p. 1038-1044	1-3

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

22. 09. 97

国際調査報告の発送日

30.09.97

国際調査機関の名称及びあて先  
日本国特許庁 (ISA/J P)  
郵便番号 100  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)  
岡部 義恵



4C 9283

電話番号 03-3581-1101 内線 3454

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/02438

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl<sup>6</sup> A61K35/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl<sup>6</sup> A61K35/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS Online

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 3-80076, A (Ortho Pharmaceutical Corp.), April 4, 1991 (04. 04. 91), & EP, 409655, A & CA, 2021500, A	1 - 3
A	Scott Koenig, et al., "Transfer of HIV-1- specific cytotoxic T lymphocytes to an AIDS patient leads to selection for mutant HIV variants and subsequent disease progression.", Nature Medicine, Vol. 1, No. 4, (1995), p. 330-336	1 - 3
A	Elizabeth A. Walter, et al., "Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor:", The New England Journal of Medicine, Vol. 333, No. 16, (1995), p. 1038-1044	1 - 3

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

September 22, 1997 (22. 09. 97)

Date of mailing of the international search report

September 30, 1997 (30. 09. 97)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/02438

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 4  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
It pertains to methods for treatment of the human body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP97/02438

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>8</sup> A61K35/14

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>8</sup> A61K35/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS Online

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 3-80076, A (オーソ・ファーマシューチカル・コーポレーション) 4. 4月, 1991 (04. 04. 91) & EP, 409655, A&CA, 2021500, A	1-3
A	Scott Koenig, et al, 「Transfer of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes to an AIDS patient leads to selection for mutant HIV variants and subsequent disease progression.」, Nature Medicine, 第1巻, 第4号, (1995), p. 330-336	1-3
A	Elizabeth A. Walter, et al, 「Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor.」, The New England Journal of Medicine, 第333巻, 第16号, (1995), p. 1038-1044	1-3

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

22. 09. 97

国際調査報告の発送日

30.09.97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

岡部 義恵

4C

9283

電話番号 03-3581-1101 内線 3454

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ 4 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
  
人又は動物の身体の治療による処置方法である。
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であって P C T 規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



09/214848-16C3

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

4  
Translation

Applicant's or agent's file reference P502(PCT)	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP97/02438	International filing date (day/month/year) 14 July 1997 (14.07.1997)	Priority date (day/month/year) 15 July 1996 (15.07.1996)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 35/14		
Applicant SEKINE, Teruaki		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

RECEIVED  
NOV 30 1999  
TECH CENTER 1600/2900

Date of submission of the demand 04 February 1998 (04.02.1998)	Date of completion of this report 11 November 1998 (11.11.1998)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP97/02438

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☒ the international application as originally filed.
- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_, as originally filed,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_, as originally filed,  
 Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_, as originally filed,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**  
**THIS PAGE**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP97/02438

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 4

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 4 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

This application relates to a method for treatment of the human body by therapy.

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

☐ no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP97/02438

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-3	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-3	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-3	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

The use of autologous lymphocytes propagated by culturing them in a liquid culture containing anti-CD3 antibody, etc., as a drug for the treatment or prevention of viral infection is not described in any of the documents cited in the ISR. Therefore, Claims 1-3 of this invention appear to contain both novelty and an inventive step.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**





PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 A61K 35/14</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO98/02175</p> <p>(43) 国際公開日 1998年1月22日(22.01.98)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP97/02438</p> <p>(22) 国際出願日 1997年7月14日(14.07.97)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平8/204294 1996年7月15日(15.07.96) JP</p> <p>(71) 出願人 ; および (72) 発明者 関根暉彬(SEKINE, Teruaki)[JP/JP] 〒135 東京都江東区塩浜一丁目1番13-420 Tokyo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 吉村公一(YOSHIMURA, Kouichi) 〒102 東京都千代田区飯田橋四丁目10番1号 セントラルプラザビル409 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: REMEDIES/PREVENTIVES FOR VIRAL INFECTIONS, PROCESS FOR PREPARING THE SAME, AND METHOD FOR PREVENTING/TREATING VIRAL INFECTIONS</p> <p>(54)発明の名称 ウイルス感染症の治療・予防剤、その調整方法および予防治療方法</p> <p>(57) Abstract Remedies/preventives for viral infections containing as the main ingredient autologous lymphocytes proliferated in a culture medium containing an anti-CD<sub>3</sub> antibody and interleukin 2 in which autologous lymphocytes have been made into a solid phase. Use of these drugs makes it possible to improve the therapeutic or preventive effects on viral infections. Thus, viral infections in patients with immunodeficiency or immunosuppression and postoperative or post-transplantation viral infections can be sufficiently prevented or treated thereby.</p>		

(57) 要約

自己由来リンパ球を固相化した抗CD3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行って増殖させた自己由来リンパ球を主成分とするウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤をウイルス感染者の治療もしくは予防に用いることで、ウイルス感染症の治療もしくは予防の効果の向上をはかることができ、免疫不全あるいは免疫低下状態の患者のウイルス感染、さらには、各種手術や移植後のウイルス感染の十分な予防や治療が可能となる。

参考情報

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に記載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AL	アルバニア	ES	スペイン	LR	リベリア	SG	シンガポール
AM	アルメニア	FI	フィンランド	LS	レソト	SI	スロヴェニア
AT	オーストリア	FR	フランス	LT	リトアニア	SK	スロヴァキア共和国
AU	オーストラリア	GA	ガボン	LU	ルクセンブルグ	SL	シエラレオネ
AZ	アゼルバイジャン	GB	英国	LV	ラトヴィア	SN	セネガル
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	MC	モナコ	SZ	スワジランド
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MD	モルドヴァ共和国	TD	チャド
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	TG	トーゴ
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TJ	タジキスタン
BG	ブルガリア	GR	ギリシャ	ML	マリ	TM	トルクメニスタン
BJ	ベナン	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TR	トルコ
BR	ブラジル	ID	インドネシア	MR	モリタニア	TT	トリニダード・トバゴ
BY	ベラルーシ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CA	カナダ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UG	ウガンダ
CF	中央アフリカ共和国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	US	米国
CG	コンゴ	IT	イタリア	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン
CH	スイス	JP	日本	NO	ノルウェー	VN	ヴェトナム
CI	コート・ジボアール	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド	YU	ユーゴスラビア
CM	カメルーン	KG	キルギスタン	PL	ポーランド	ZW	ジンバブエ
CN	中国	KR	朝鮮民主主義人民共和国	PT	ポルトガル		
CU	キューバ	KZ	大韓民国	RO	ルーマニア		
CZ	チェッコ共和国	LC	セントルシア	RU	ロシア連邦		
DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	SD	スーダン		
DK	デンマーク	LK	スリランカ	SE	スウェーデン		
EE	エストニア						

## 明 細 書

## ウイルス感染症の治療・予防剤、その調製方法および予防治療方法

## 技術分野

本発明は、ウイルス感染症患者のリンパ球を固相化した抗CD3抗体  
5 及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なうことにより、増殖させた自己由来リンパ球を主成分として、これをウイルス感染症の治療もしくは予防に用いて、ウイルス感染症の治療もしくは予防効果の向上、ならびに各種手術や移植後のウイルス感染の十分な予防を可能にするようにしたウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤、及びその調製方法、  
10 法、もしくはその予防治療方法に関する。

## 背景技術

生体は、免疫系により種々の感染症や癌等から自らの身を守っている。ここにいう免疫系には、液性免疫と細胞性免疫が一般的に知られている。  
15 血清タンパク質の一種である補体やリゾチーム、抗体等は液性免疫を担い、マクロファージやNK細胞、T細胞等の細胞は、細胞性免疫を担っている。癌に対する免疫反応としては、NK細胞やT細胞を主体とする細胞性免疫が一般的に重要であると考えられている。

細胞は、細胞の表面に発現している表面マーカーにより分類されている。成熟したT細胞には、表面マーカーとしてCD3が発現している。  
20 成熟したT細胞は、CD3を表面マーカーとして発現するだけでなく、抗腫瘍活性や抗ウイルス活性を有するキラーT細胞はCD8を、各種の免疫系細胞の活性化に密接に関係しているヘルパーT細胞はCD4を発現している。また、成熟したT細胞には、T細胞レセプターが発現して  
25 おり、本レセプターは、特定の抗原に対する親和性が高い。T細胞は、単一のT細胞レセプターのみを発現し、本レセプターを介して抗原特異的なT細胞の活性化が行なわれている。さらに、T細胞レセプターは、

非常に多様性に富んでおり、生体内には異なる多種類のT細胞が存在している。

一方、ウイルス感染防御としては、初期においては、ウイルスを非特異的に不活化する補体やリゾチーム及びウイルスを貪食するマクロファージが重要である。ウイルス感染数日後からウイルス特異的な抗体の急速な上昇が始まり、本抗体が感染防御に重要な役割を担い始める。ウイルス特異的な抗体としては、ウイルス自体を不活化する中和抗体や、そのもの自体にはウイルスを不活化する能力を持たないがT細胞等との連携によりウイルス感染細胞を特異的に排除するADCC活性を担う特異抗体がある。そのため、ウイルス感染防御反応では、液性免疫と細胞性免疫の両者が重要な役割を担っている。このように、免疫系を介する生体防御反応であっても、癌に対する生体防御反応とウイルス感染症に対する生体防御反応とでは大きく異なる。

ウイルスは、もともと外来性のものであり、ホストの細胞に寄生して増殖を行う性質をもつ。この場合一つの感染細胞から何千、何万というウイルス粒子が一挙に産生されるために、その増殖速度は爆発的である。これに対して癌は、もともとホスト由来の細胞が変異して生じたものであり、二分裂に有する時間は、早いものでも20時間前後である。また、ウイルスによっては、感染細胞中に潜んだ状態で生体内に存在する潜伏感染をするものもある。潜伏感染するウイルスとしては、各種ヘルペスウイルス属ウイルスやレトロウイルスが知られている。これらのウイルスは、ホストの免疫能が低下した場合に病原性を示す場合がある。

このように癌とウイルス感染症では、その生体防御機構、増殖速度、増殖メカニズム、由来がまったく異なる。そのため癌治療で有効な治療方法が、必ずしもウイルス感染症の予防や治療に有効であるとは限らない。実際、臨床上で使用される抗癌剤と抗ウイルス剤とでは多くの場合異なっている。さらに癌患者のリンパ球、特にT細胞、NK細胞をインターロイキン2で刺激し、これが抗腫瘍活性を有することは、ローゼンバークらにより最初に報告されている〔New Eng. J. Med.,

319, 1678 (1988)]。また、癌患者自身のリンパ球を抗CD3固相化抗体及びインターロイキン2で刺激増殖させたリンパ球の増殖刺激法についても、本発明者らによりすでに報告されている（特開平3-80076号公報参照）。

- 5 さらに、本リンパ球を使用した癌の治療についても報告されている〔HUMAN CELL, 7, pp. 121-123 (1994)]。さらにKliona M Rooneyらは、インターロイキン2及びEpstein Barrウイルス形質転換リンパ球の刺激により増殖させた骨髄細胞提供者由来のリンパ球が、骨髄移植時に出現するEpstein Barrウイルスに関係したリンパ球増殖に対して有効であることを報告している〔Lancet, 345, 9 (1995)]。さらにElizabeth A Walterらは、抗CD3抗体とサイトメガロウイルス感染繊維芽細胞およびインターロイキン2の刺激により増殖させた骨髄細胞提供者由来のリンパ球が、骨髄移植時のサイトメガロウイルス感染症に対して有効である報告をしている〔New Eng. J. Med., 333 (16) 1038 (1995)]。しかしながら、抗CD3固相化抗体及びインターロイキン2で刺激増殖させた患者自身の自己リンパ球を使用したウイルス感染症患者の治療報告はない。Scottらは、PHA、インターロイキン2、フィーダー細胞、OK
- 10 T-3を使用して患者自身のリンパ球からHIVに特異的なリンパ球を調製してHIVの治療検討を行っているが、HIV感染症の治療に成功していない〔Nature Medicine, 1 (4), pp. 330-336 (1995)]。

- しかしながら特開平3-80076号公報に開示されたものは、CD
- 25 3抗体およびインターロイキン2により刺激・増殖させたリンパ球による癌の治療に関するものであり、CD3抗体およびインターロイキン2による刺激・増殖させたリンパ球による感染症癌についての効果を明らかにするものではない。

またリンパ球を使用した癌の治療に関する〔HUMAN CELL〕

の報告についても、上記したのと同様に C D 3 抗体およびインターロイキン 2 により刺激・増殖させたリンパ球による癌の治療に関するものであり、C D 3 抗体およびインターロイキン 2 による刺激・増殖させたリンパ球による感染症についての効果を明らかにするものではない。

- 5 さらにウイルス形質転換リンパ球の刺激により増殖させた骨髄細胞提供者由来のリンパ球が、骨髄移植時に出現する E p s t e i n B a r r ウイルスに関係したリンパ球増殖に対して有効であるとする K l i o n a M R o o n e y らの報告についても、使用しているリンパ球は、患者自身のものではなく、骨髄細胞提供者のものであり、しかも治療し  
10 ようとする感染症を発病していない健常人のものである。そのため、既に感染症におかされて発病している患者自身のリンパ球を刺激・増殖させたリンパ球が、感染症に有効であるか否かを明らかにするものではない。さらにリンパ球の刺激・増殖過程において固層化した抗 C D 3 抗体を使用しておらず、基本的にリンパ球の刺激・増殖方法が異なっている。
- 15 抗 C D 3 抗体とサイトメガロウイルス感染繊維芽細胞およびインターロイキン 2 の刺激により増殖させた骨髄細胞提供者由来のリンパ球が、骨髄移植時のサイトメガロウイルス感染症に対して有効であるとする E l i z a b e t h A . W a l t e r らの報告についても、上記したのと同様に、使用しているリンパ球は、患者自身のものではなく、骨髄細胞提供者のものであり、しかも治療しようとする感染症を発病してい  
20 ない健常人のものである。そのため、既に感染症におかされて発病しているか、あるいは、免疫能が低下している患者自身のリンパ球を刺激・増殖させたリンパ球が、感染症に有効であるか否かを明らかにするものではない。さらにリンパ球の刺激・増殖過程において固層化した抗 C D 3  
25 抗体を使用しておらず、基本的にリンパ球の刺激・増殖方法が異なっているところから、ウイルス感染症の患者に対する治療には不向きである。

そこで、本発明の目的は、ウイルス感染症の治療もしくは予防効果のより一層の向上、ならびに各種手術や移植後のウイルス感染の十分な予防を可能にするのみならず、リンパ球増殖の著しい効率化をはかること

ができあるウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤、その調製方法および予防治療方法を提供することにある。

本発明の他の目的は、具体的には自己由来リンパ球を、固相化した抗C D 3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なうこと  
5 により増殖させた、自己由来リンパ球を主成分としてウイルス感染症の治療剤もしくは予防に用いることができるウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤を提供することにある。

本発明の更に他の目的は、ウイルス感染症患者が、免疫不全あるいは免疫低下状態にある場合に使用して著効を発揮するウイルス感染症の治  
10 療剤もしくは予防剤を提供することにある。

本発明の更にその他の目的は、自己由来リンパ球を、固相化した抗C D 3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なうことにより増殖させるようにした、自己由来リンパ球を主成分とする  
15 ウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤の調製方法を提供することにある。

本発明の他の目的は、自己由来リンパ球を、固相化した抗C D 3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なうことにより増殖させた、自己由来リンパ球を主成分とするウイルス感染症の治療剤もしくは  
20 予防剤を、感染症患者に投与することよりなるウイルス感染症の予防治療方法を提供することにある。

ウイルス感染症患者からリンパ球を採取し、これを固相化した抗C D 3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なうと、培養直後から増殖を開始し、以後約2週間経過後には、リンパ球の数はおよそ1, 0 0 0倍～1 0, 0 0 0倍になる。

## 25 発明の開示

本発明によるウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤は、自己由来リンパ球を主成分とし、前記自己由来リンパ球を固相化した抗C D 3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なって増殖させてなることを特徴とする。

### 発明を実施するための最良の形態

本発明によるウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤は、自己由来リンパ球を固相化した抗CD3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行って増殖させた自己由来リンパ球を主成分としたもので、  
5   ここでのウイルス感染症とは、本発明の治療もしくは予防の施療投与時にウイルス感染を起こしている、あるいは、ウイルス感染症を発症する可能性がある免疫低下状態にある場合を指す。

一般的に細胞は、細胞の表面に発現している表面マーカーにより分類されている。成熟したT細胞には、表面マーカーとしてCD3が発現し  
10   ている。成熟したT細胞は、CD3を表面マーカーとして発現するだけでなく、抗腫瘍活性や抗ウイルス活性を有するキラーT細胞はCD8を、各種の免疫系細胞の活性化に密接に関係しているヘルパーT細胞はCD4を発現している。また、成熟したT細胞には、T細胞レセプターが発現しており、本レセプターは、特定の抗原に対する親和性が高い。T細胞  
15   は、単一のT細胞レセプターのみを発現し、本レセプターを介して抗原特異的なT細胞の活性化が行なわれている。さらに、T細胞レセプターは、非常に多様性に富んでおり、生体内には異なる多種類のT細胞が存在している。

一方ウイルス感染症としては、サイトメガロウイルス、エプスタイン  
20   ・バール・ウイルス、ヘルペスシンプレックスウイルス、バリセロゾスターウイルスを代表例とする各種ヘルペスウイルス属のウイルス、ヒト免疫ノデフィシェンシーウイルス、HTLVを代表とする各種レトロウイルス属のウイルス、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、D型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、F型肝炎ウイルス、  
25   G型肝炎ウイルスを代表とする各種肝炎ウイルス、その他、インフルエンザウイルス等を起因菌とした感染症が挙げられる。特に、ヘルペスウイルス属によるウイルス感染症に有効である。しかしながら、本発明は、列挙したウイルスのみに限定されない。



患者が免疫不全や免疫低下状態にある場合は、本発明が特に有効である。免疫不全としては、先天性あるいは後天性のものがあげられる。先天性としては、ウイスコットアルドリッチ症候群等が、後天性としては、AIDS、ARC等があげられる。また、免疫低下状態としては、臓器  
5 や骨髄移植のための免疫抑制剤投与時、あるいは、担癌時、火傷、手術後、薬の免疫細胞系などへの副作用時などが挙げられる。免疫不全や免疫低下状態に陥る原因としては、列挙したものに限定されない。本発明は、原因がどのようなものであっても、ウイルス感染症患者在医学的に免疫不全あるいは免疫低下状態にあると考えられる場合に、特に有効である。  
10

患者からのリンパ球の採取は、末梢血あるいは、リンパ節、胸腺などから採取することができる。患者由来のリンパ球であれば、いずれの組織あるいは臓器由来のものであっても良い。特に、静脈からの末梢血の採取は、患者の負担、簡便性の点で優る。末梢血は、凝集を防ぐ目的で  
15 ヘパリン加採血あるいはクエン酸加採血などで行えるが、本方法に限定されない。末梢血からのリンパ球の分離は、本実施例においては、密度遠心分離により行っている。密度遠心分離としては、フィコールハイパック、モノポリレゾリューション等が使用できる。しかしながら、本方法に限定されるものではない。

20 また、一回に採血する血液量としては、0.1～500mlで行なうことができる。より好ましくは、1～100mlで行なうことができる。さらに好ましくは10～50mlで行なうことができる。本方法は、大量の血液あるいは小量の血液を材料として実施できるが、特に小量の血液の場合、患者の負担を最小限におさえることができる。そのため、一回の採血量は、50ml程度が好ましい。一回の採血により数回分の投与に使用できる細胞が調製できるが、投与回数あるいは投与間隔に応じて適宜採血を行い、細胞を調製することができる。  
25

抗CD3抗体としては、CD3を認識する抗体であれば、どのようなものでも使用できるが、例えばOKT3抗体（オーソファーマスーティ

カル社製) 等も使用できる。さらに抗CD3抗体を固相化する支持体としては各種フラスコ、シャーレ、プレート、バッグが使用できる。抗体の固相化方法は、非特異的吸着や化学結合による方法で行えるが、抗CD3抗体によりリンパ球が刺激できる固相化方法であればいずれの方法  
5 でも良い。また、インターロイキン2は、リンパ球、特にT細胞を活性化できるものならば、どのようなものでも使用可能である。インビトロでの細胞の培養は、RPMI 1640培地、DMEM培地、各種無血清培地が使用できる。必要により本培地に、血清、タンパク質、アミノ酸、糖類、抗生物質を添加してリンパ球の培養をすることができる。

- 10 インビトロで増殖させたリンパ球は、生理食塩水やリン酸緩衝液を代表例とする各種緩衝液に懸濁させて投与することができる。リンパ球は、 $1 \times 10^4$ 個/ml から  $1 \times 10^8$ 個/ml の細胞濃度で使用する。より好ましくは、 $1 \times 10^6$ 個/ml から  $1 \times 10^8$ 個/ml の細胞濃度で使用する。細胞懸濁液には、細胞の凝集や容器への吸着を防ぐ目的で、  
15 タンパク質等を添加することが望ましい。タンパク質としては、例えば0.1w/v%~10w/v%濃度のヒトアルブミン等が使用できる。

投与経路としては、腹腔内、動脈内、筋肉内、皮下等どのような経路でも投与できるが、便宜性の点から、特に静脈投与が推奨される。また投与時期については、感染症の発症時あるいは、発症前のいずれでも投  
20 与できる。特に、本実施例においては、本発明の治療予防剤の効果が明瞭な感染症発症時に投与を行っている。また、治療効果を有する場合は、予防効果も有することは当業者であれば容易に推測できるものである。そのため、本発明の治療予防剤は、治療剤および予防剤として使用できる。

- 25 投与には、固相化CD3抗体とインターロイキン2で刺激増殖させたリンパ球や、刺激後、適当な培養液中で拡大培養を行なったリンパ球が使用できる。拡大培養を行なう培養液中には、必要に応じてインターロイキン2を添加したものが使用できる。なお本発明は、採取したリンパ球を固相化した抗CD3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で

培養を行なうことにより増殖させているが、必要により各種サイトカイン、増殖因子等を添加したり、特定の抗原で刺激することによりリンパ球を増殖させることもできる。

以下に、本発明の実施例を示すが、本発明は実施例に例示したもの  
5 みに限定されない。

〔実施例 1〕 OKT3 抗体固相化フラスコの調製

5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  濃度の OKT3 抗体を含む PBS (−) 溶液 30 ml を底面積 225 平方 cm の培養フラスコ (住友ベークライト社製) に加え、底面が溶液で覆われる状態で室温にて 2 時間放置し、OKT3 固相化フ  
10 ラスコを調製した。これを使用時まで、4℃で保管する。

〔実施例 2〕 リンパ球の調製

ヘルペスシンプレックス感染及び EB ウイルス感染症であるウイスコット・アルドリッチ症候群患者の静脈より、ヘパリン加末梢血として 50 ml を採血した。これに等量の RPMI 1640 培地を加え、予め数  
15 本の 15 ml の遠心管に分注しておいたリンホセパール I (免疫生物研究所製) に重層し、1800 rpm で 15 分間遠心した。遠心後、リンパ球層をピペットにより集め、RPMI 1640 培地 30 ml と混和後、遠心分離を行なった (1800 rpm、10 分間)。上清を除去後、細胞ペレットを良くほぐし、これに培養液 (カナマイシン 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、  
20 ストレプトマイシン 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、グルタミン 2 mM、オキザロ酢酸 1 mM、ピルビン酸ナトリウム 1 mM、HEPES 10 mM、インスリン 0.2 U/ml を含む RPMI 1640 培地にヒト血清 10% およびインターロイキン 2 を 700 U/ml 添加したもの) 50 ml を加え、細胞懸濁液を調製する。

25 実施例 1 で作製した OKT3 固相化フラスコを PBS (−) により 2 回洗浄した。洗浄後、上記細胞懸濁液を OKT3 固相化フラスコに接種し、5% 炭酸ガス、飽和湿度下、37℃で培養を行なった。3 日後に培養液 50 ml を加え、4 日後にさらに培養液 150 ml を加え、懸濁後、フラスコ中の培養液 125 ml を新たな OKT3 固相化フラスコに移し、

培養を行なった。6日後にフラスコ中の培養液約250mlをLL-7培養液（日研生物医学研究所製）750mlに加え、ガス透過性培養バッグを用いて、5%炭酸ガス存在下、37℃で培養した。8日目に1リットルの培養液を加え、これを2バッグのガス透過性培養バッグで培養した。同様に10日目には4バッグで、12日目には6バッグで培養を行なった。14日目に細胞を遠心分離により集め、これを2%ヒトアルブミンを含む生理食塩水約250mlに懸濁し、リンパ球懸濁液を調製した。

### 〔実施例3〕 リンパ球の投与

10 実施例2で調製したリンパ球懸濁液を静脈より5回投与した。一回目の投与に約 $1.2 \times 10^{10}$ 個のリンパ球を使用した。その結果、ヘルペスシンプレックスウイルスによる目の病巣が治癒した。これによりリンパ球投与がヘルペスシンプレックスウイルス感染症に有効であることが明かとなった。

### 15 〔実施例4〕 血中EBウイルス量の測定

実施例3に示したリンパ球投与を行なった患者血中のEBウイルス量をPCR法により測定した結果、リンパ球投与回数が増えるに従って、血中のEBウイルス量が低下していた。このことよりリンパ球投与がEBウイルス感染症に有効であることが明かとなった。

### 20 〔実施例5〕

ウイスコット・アルドリッチ症候群患者の静脈から採血する代わりにHIV感染患者の静脈から採血する以外は実施例2と同様にリンパ球の調製、培養を行った。HIV感染患者のリンパ球もウイスコット・アルドリッチ症候群の患者のリンパ球と同様に増殖させることができ、25 14日後に細胞数は $9 \times 10^9$ 個に達した。

### 産業上の利用可能性

本発明は、採取した患者のリンパ球を、固相化した抗CD3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なうことにより増殖させることを内容とした、自己由来リンパ球を主成分とするウイルス感染症

の治療剤もしくは予防剤、あるいはそれらの調製方法、またはこれらを感染症患者に投与することよりなるウイルス感染症の予防治療方法であるために、ウイルス感染症の治療もしくは予防に対して著効を発揮できるだけでなく、各種手術や移植後の予防用としても使用することが可能である。

本発明の治療剤もしくは予防剤は、最も治療や予防が困難なウイルス感染症に有効であることから、細菌、真菌、原虫等の治療および予防のために使用できる。更に、本発明の治療剤もしくは予防剤から特定のタイプのリンパ球を選別したり、ある種の細胞を加えたり、あるいは、インターロイキン12等のサイトカインで活性化したりしてウイルス感染症の治療および予防に使用することができる。また、本発明による治療剤もしくは予防剤の投与時にインターロイキン12等のサイトカインや、各種抗ウイルス剤を併用することによりウイルス感染症の治療および予防を行うことができる。

## 請 求 の 範 囲

1. 自己由来リンパ球を、固相化した抗CD3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なうことにより増殖させたことを特徴とする、自己由来リンパ球を主成分とするウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤。
2. 自己由来リンパ球が、免疫不全あるいは免疫低下状態である患者由来である請求の範囲第1項記載のウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤。
- 10 3. 自己由来リンパ球を、固相化した抗CD3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なうことにより増殖させるようにしたことを特徴とする、自己由来リンパ球を主成分とするウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤の調製方法。
- 15 4. 自己由来リンパ球を、固相化した抗CD3抗体及びインターロイキン2を含む培養液中で培養を行なうことにより増殖させるようにしたことを特徴とする、自己由来リンパ球を主成分とするウイルス感染症の治療剤もしくは予防剤を感染症患者に投与することよりなるウイルス感染症の予防治療方法。